



### Лабораторна робота №3

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗА ДОПОМОГОЮ БІУРЕТОВОГО РЕАКТИВУ

**Мета роботи:** навчитися кількісно визначати загальний білок у сироватці крові за допомогою біуретового реактиву.

**Практичне значення роботи.** У клініко-біохімічних лабораторіях для встановлення діагнозу захворювання проводять кількісне визначення концентрації загального білка у біологічних рідинах організму (сироватці крові, сечі, спинномозковій рідині).

У нормі вміст загального білка у сироватці крові дорівнює у дорослих 65-85 г/л (6,5-8,5 мг/мл).

Зниження рівня концентрації білка (*гіпопротеїнемія*) спостерігається при недостатньому надходженні білків з їжею або зниженні процесів біосинтезу білків в органах, втраті білка організмом при гострих і хронічних кровотечах, підвищеній проникності капілярних стінок, при крововиливах і набряках.

Підвищення рівня концентрації білка (*гіперпротеїнемія*) відзначається рідко: при згущенні крові через значні втрати рідини, при інфекційному чи токсичному ураженні ретикулоендотеліальної системи, в клітинах якої синтезуються глобуліни, при хронічному поліартриті, ревматизмі.

Гіпопротеїнемія майже завжди пов'язана з гіпоальбунемією, гіперпротеїнемія – з гіперглобулінемією.

**Матеріали та реактиви:** біохімічні пробірки, піпетки, робочий розчин біуретового реактиву, стандартний розчин альбуміну (1 мл стандартного розчину альбуміну, що містить 10 мг або 0,01 г білка), фотоелектроколориметр (КФК-2 або КФК-3), кювети з товщиною шару 1 см, міліметровий папір.

**Принцип реакції.** Реакція утворення комплексу описана в лабораторній роботі №1, дослід 1.

**Хід роботи.** До 5 мл робочого розчину біуретового реактиву додають 0,1 мл 0,9%-й розчин натрій хлориду (фізіологічний розчин) (*холоста* або *контрольна проба*). Вміст пробірки перемішують.

До 5 мл робочого розчину біуретового реактиву додають, уникаючи утворення піни, 0,1 мл сироватки крові (*дослідна проба*). Вміст пробірки перемішують.

До 5 мл робочого розчину біуретового реактиву додають відповідно у 5 пробірок 0,2 мл; 0,4 мл; 0,6 мл; 0,8 мл; 1,0 мл розчину альбуміну, що містить 10 мг або 0,01 г білка в 1 мл (*калібрувальна проба*). Загальний об'єм у кожній пробірці доводять до 1 мл дистильованою водою. Вміст пробірок перемішують.

Через 30 хв, але не пізніше ніж через 1 год, усі проби (холосту або контрольну, дослідну, калібрувальну) колориметрують на фотоелектроколориметрі (КФК-2 або КФК-3) в кюветі з товщиною шару 10 мм при зеленому світлофільтрі (максимум пропускання 540-560 нм, краще 546 нм).

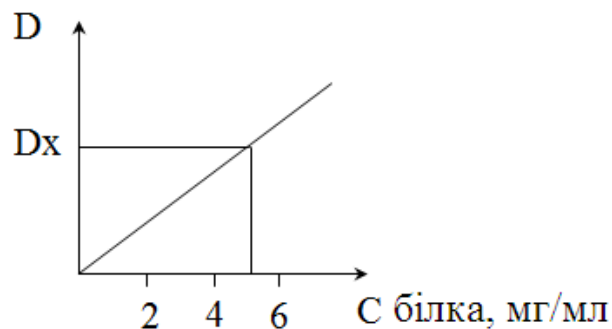
У холостій або контрольній пробі спостерігається розчин *синього кольору*. У дослідній та калібрувальних пробах розчин набуває *синьо-фіолетового забарвлення*.

Визначають експериментально показник екстинкції у всіх пробах при довжині хвилі 540 нм або 546 нм.

Будують калібрувальну криву за значеннями показників екстинкції 5 калібрувальних проб (див. пункт 3 – Побудова калібрувальної кривої для речовини та пункт 4 – Визначення концентрації речовини в розчині (рис. 5).

Розрахунки концентрації загального білка в сироватці крові виконують за калібрувальною кривою; розраховують на 1 мл нерозведеної сироватки крові.

Графік будують на міліметровому папері за прикладом.



Норма білка в сироватці крові складає 6-8 мг/мл або 60-80 г/л.

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**